

Validação de uma Escala Diagramática para Estimar Severidade da Antracnose do Colmo em Milho



Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária

Embrapa Milho e Sorgo

Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento

Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento 104

Validação de uma Escala Diagramática para Estimar Severidade da Antracnose do Colmo em Milho

Rodrigo Veras da Costa

Luciano Viana Cota

Dagma Dionísia da Silva

Alessandro Nicoli

Laércio Zambolim

Daniel Pereira Guimarães

Elena Charlotte Landau

Embrapa Milho e Sorgo

Sete Lagoas, MG

2014

Exemplares desta publicação podem ser adquiridos na:

Embrapa Milho e Sorgo

Rod. MG 424 Km 45

Caixa Postal 151

CEP 35701-970 Sete Lagoas, MG

Fone: (31) 3027-1100

Fax: (31) 3027-1188

Home page: www.cnpms.embrapa.br

E-mail: cnpms.sac@embrapa.br

Comitê de Publicações da Unidade

Presidente: Sidney Netto Parentoni

Secretário-Executivo: Elena Charlotte Landau

Membros: Antonio Claudio da Silva Barros, Dagma Dionísia da

Silva, Maria Marta Pastina, Monica Matoso Campanha, Paulo

Eduardo de Aquino Ribeiro e Rosângela Lacerda de Castro

Revisão de texto: Antonio Claudio da Silva Barros

Normalização bibliográfica: Rosângela Lacerda de Castro

Tratamento de ilustrações: Tânia Mara Assunção Barbosa

Editoração eletrônica: Tânia Mara Assunção Barbosa

Foto(s) da capa: Rodrigo Veras da Costa

1ª edição

1ª impressão (2014): on line

Todos os direitos reservados

A reprodução não-autorizada desta publicação, no todo ou em parte, constitui violação dos direitos autorais (Lei no 9.610).

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

Embrapa Milho e Sorgo

Validação de uma escala diagramática para estimar severidade da antracnose do colmo em milho / Rodrigo Vêras da Costa ... [et al.]. -- Sete Lagoas : Embrapa Milho e Sorgo, 2014.

32 p. : il. -- (Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento / Embrapa Milho e Sorgo, ISSN 1679-0154; 104).

1. Milho. 2. *Zea mays*. 3. Doença de planta. 4. Avaliação. I. Costa, Rodrigo Vêras da. II. Série.

CDD 633.15 (21. ed.)

© Embrapa 2014

Sumário

Resumo	4
Abstract	6
Introdução	7
Material e Métodos	9
Resultados	14
Discussão	24
Conclusão	26
Agradecimentos	26
Referências	26

Validação de uma Escala Diagramática para Estimar Severidade da Antracnose do Colmo em Milho

Rodrigo Veras da Costa¹

Luciano Viana Cota²

Dagma Dionísia da Silva³

Alessandro Nicolí⁴

Laércio Zambolim⁵

Daniel Pereira Guimarães⁶

Elena Charlotte Landau⁷

Resumo

Este estudo teve como objetivo propor e validar uma escala diagramática para quantificar a antracnose do colmo em milho. A antracnose foi estimada por dez avaliadores sem o uso de escala em 139 entrenós com diferentes graus de severidade, e os mesmos avaliadores avaliaram os entrenós usando a primeira escala e a escala proposta. Baseado na análise de correlação concordante de Lin e teste de equivalência, além da

¹Eng.-Agrôn., D.Sc. em Fitopatologia, Pesquisador da Embrapa Milho e Sorgo, Sete Lagoas, MG, rodrigo.veras@embrapa.br

²Eng.-Agrôn., D.Sc. em Fitopatologia, Pesquisador da Embrapa Milho e Sorgo, Sete Lagoas, MG, luciano.cota@embrapa.br

³Eng.-Agrôn., D.Sc. em Fitopatologia, Pesquisadora da Embrapa Milho e Sorgo, Sete Lagoas, MG, dagma.silva@embrapa.br

⁴Pós-doutorando, Universidade Federal de Viçosa, Av. P.H. Rolfs, s/n_, Departamento de Fitopatologia, Campus Universitário, CEP 36570-000 Viçosa, MG, Brasil.

⁵Eng.-Agrôn., D.Sc. em Fitopatologia, Professor Titular na Universidade Federal de Viçosa - UFV, Viçosa, MG, zambolim@ufv.br

⁶Eng.-Florestal, D.Sc. em Manejo Florestal, Pesquisador da Embrapa Milho e Sorgo, Sete Lagoas, MG, daniel.guimaraes@embrapa.br

⁷Bióloga, D.Sc. em Zoneamento Ecológico - Econômico, Agroclimatologia e Geoprocessamento, Pesquisadora da Embrapa Milho e Sorgo, Sete Lagoas, MG, charlotte.landau@embrapa.br

linha de regressão obtida entre a severidade real e estimada, as avaliações realizadas por todos os avaliadores foram mais próximas ao valor real com a escala proposta. Por meio dessa escala, todas as variáveis foram significativamente diferentes em relação à primeira escala, e os valores foram mais próximos de uma medição acurada ($r = 0.97$, $C_b = 0.98$, $u = 0.09$, $s = 1.06$, $c = 0.96$). Os maiores desvios em erro foram observados quando os avaliadores atribuíram notas sem o uso de escalas e com a primeira escala, com vários exemplos de erros maiores do que 30%. Com a escala proposta, poucos erros acima de 15% foram encontrados e a maioria foi concentrada no intervalo de 10%. Uma maior confiabilidade na estimativa da severidade da doença foi obtida com o uso da escala proposta, através da qual 100% das comparações resultaram em um $R^2 > 0.90$. Essa escala diagramática proposta neste trabalho melhora a acurácia, precisão e confiabilidade das estimativas da severidade da antracnose do colmo em milho.

Palavras-chave: *Zea mays*, *Colletotrichum graminicola*, severidade da doença, avaliação.

Validation of a Diagrammatic Scale to Estimate Severity of Anthracnose in Corn

Rodrigo Veras da Costa¹

Luciano Viana Cota²

Dagma Dionísia da Silva³

Alessandro Nicolí⁴

Laércio Zambolim⁵

Daniel Pereira Guimarães⁶

Elena Charlotte Landau⁷

Abstract

This study aimed to propose and validate a diagrammatic scale to anthracnose in corn. Anthracnose was estimated by ten raters without the use of scale in 139 internodes with varying degrees of severity, and the same raters evaluated the internodes using the first scale and the scale proposed. Based on Lin analysis of consistent correlation and equivalence test, besides the regression line obtained between actual and estimated severity, the assessments conducted by all evaluators were closer to the actual value with the proposed scale. Through this scale, all variables were significantly different from the first scale, and the values were closer to an accurate measurement ($r = 0.97$, $C_b = 0.98$, $u = 0.09$, $v = 1.06$, $\rho_c = 0.96$). The largest error deviations were observed when evaluators attributed notes without the use of scales and using the first scale, with various examples of errors greater than 30%. With this scale, few errors above 15% were found and most were concentrated in the 10% range. Greater reliability in estimating the severity of the disease was obtained using the proposed scale, through which 100% of

the comparisons resulted in an $R^2 > 0.90$. This diagrammatic scale proposed in this paper improves accuracy, precision and reliability of estimates of the severity of anthracnose stalk in corn.

Keywords: *Zea mays*, *Colletotrichum graminicola*, disease severity, evaluation.

Introdução

A antracnose do colmo (*Colletotrichum graminicola* (Ces.) Wils) é uma das doenças mais importantes na cultura do milho em vários países, causando acamamento das plantas, redução na produção e qualidade dos grãos (PERKINS; HOOKER, 1979; CALLAWAY et al., 1992; BERGSTROM; NICHOLSON, 1999; COTA et al., 2012; MATIELLO et al., 2013). Uma maior incidência da doença é verificada nas principais regiões produtoras de milho do mundo, devido em grande parte a utilização de plantios sucessivos, uso de genótipos suscetíveis, aumento da densidade de plantas, frequência de condições ambientais favoráveis, além do plantio direto sem a rotação de cultura e a presença de insetos causadores de ferimentos no colmo, como a broca-europeia (*Ostrinia nubilalis* Hübner) e a broca-da-cana (*Diatraea saccharalis* Fabr.) (KELLER et al., 1986; BERGSTROM; NICHOLSON, 1999; VENARD; VAILLANCOURT, 2007; JIRAK-PETERSON; ESKER, 2011; COTA et al., 2012; MATIELLO et al., 2013).

Os sintomas da antracnose do colmo são mais visíveis após o florescimento das plantas de milho, mas o processo infeccioso inicia-se pelos propágulos provenientes das lesões foliares

ou daqueles presentes em restos culturais. Na casca, surgem lesões estreitas, longitudinais e com aspecto encharcado, que são inicialmente de coloração pardo-avermelhada, posteriormente tornando-se marrom-escuras a negras. Nos tecidos internos do colmo ocorre uma coloração marrom-escura, que entra em processo de desintegração, afetando o fluxo de água e nutrientes do colmo para a parte superior, podendo ocasionar a morte prematura e o acamamento das plantas (WHEELER et al., 1974; KELLER; BERGSTROM, 1988; BERGSTROM; NICHOLSON, 1999; VENARD; VAILLANCOURT, 2007).

A estimativa da intensidade de uma doença como a antracnose do colmo é importante para avaliar as diferentes medidas de controle, determinar resistência varietal, testar a eficiência de fungicidas, estudar a relação com os danos de produção, entre outros objetivos. Com isso, as características de acuracidade, precisão e reprodutibilidade são muito desejáveis na avaliação de doença (VALE et al., 2004; MADDEN et al., 2007).

No milho, a podridão do colmo como a antracnose, normalmente, é avaliada por meio de uma escala de notas que possui classes de intensidade da doença seguindo uma progressão aritmética, mas com grandes intervalos em severidade entre as notas (CHRISTENSEN; WILCOXSON, 1966; ANDERSON; WHITE, 1994; TODD; KOMMEDAHL, 1994; AFOLABI et al., 2008). Alguns pesquisadores utilizam escala com intervalos menores nas primeiras notas e maiores nas seguintes, além de adotar o ponto médio de severidade para realizar a análise estatística (KELLER; BERGSTROM, 1988; MUIMBA-KANKOLONGO; BERGSTROM, 1992, 2011). No entanto, grandes intervalos de notas, como 0-25% ou 25 -

75%, podem dificultar a precisão da avaliação da doença no colmo em relação ao valor real da severidade, além de afetar a diferença significativa entre os tratamentos por meio das análises estatísticas.

Outro fator a ser considerado neste patossistema está relacionado com a inoculação. Esse procedimento normalmente é realizado por meio da inserção no interior do colmo com uma agulha de seringa veterinária ou palito de dente contendo o inóculo do patógeno (KELLER; BERGSTROM, 1988; MUIMBA-KANKOLONGO; BERGSTROM, 1992, 2011; ANDERSON; WHITE, 1994; LAURA; KOMMEDAHL, 1994; AFOLABI et al., 2008; MATIELLO et al., 2013). Sendo assim, uma pequena descoloração é observada nos locais de perfuração com inserção da agulha ou palito sem a presença de inóculo, em plantas testemunhas. Portanto, durante a avaliação é preciso considerar esse dano causado pelo método de inoculação, e o uso de escala com intervalos menores entre as notas facilita essa operação.

Portanto, para melhorar a acurácia e precisão da estimativa da severidade da doença, é de grande importância o estudo para a validação de uma escala antes de ser recomendada. Considerando esses fatores, o objetivo deste presente estudo foi propor e validar uma escala diagramática para a avaliação da podridão do colmo causada por *C. graminicola*.

Material e Métodos

Para elaboração da escala, 60 plantas do híbrido simples BRS1010 (Embrapa) foram inoculadas com o fungo *C. graminicola* em casa de vegetação. As plantas foram inoculadas

na fase de pré-pendoamento (aproximadamente 60 dias após o plantio), adotando-se o método do palito imerso na suspensão de esporos (10^6 conídios ml^{-1}). Antes da inoculação, as três folhas da parte inferior das plantas foram removidas, expondo-se os três entrenós da base do colmo, e foi realizada uma desinfestação superficial dos colmos por meio de álcool 70%. Para a inoculação, o terceiro entrenó das plantas foi perfurado com o uso de um furador manual esterilizado e, em seguida, foi inserido o palito contendo a suspensão de esporos, o qual permaneceu no colmo até o momento da avaliação. Três plantas perfuradas apenas com palito estéril foram utilizadas como testemunha.

A avaliação da antracnose do colmo foi realizada aos 30 dias após a inoculação. Para isso, os 63 colmos foram cortados longitudinalmente e as lesões foram fotografadas em um total de 139 entrenós que apresentaram sintomas da doença. As imagens foram feitas com câmera fotográfica digital com resolução de 16.2 Megapixel. Os colmos foram colocados em uma bancada sobre uma folha de papel plastificado de dimensões conhecidas (80 x 80 cm) e as fotos foram tomadas em posição oblíqua em distância que permitiu o recobrimento de toda a superfície a ser imageada. A correção geométrica das imagens foi feita com o uso do programa de sistemas de informações geográficas (SIG) Quantum Gis Versão 8 - Lisboa (www.qgis.org), software livre da Open Source Geospatial Foundation – OSGeo, através do módulo de georreferenciamento de imagens tendo como pontos de controle as dimensões da folha usada como referencial. O reconhecimento de padrões de infecção, conversão de raster em shapefile e determinação de percentual de área necrosada (severidade real) foram realizados usando-se o software

livre Hypercube desenvolvido pelo Centro de Engenharia Topográfica das Forças Armadas Americanas (www.agc.army.mil/hypercube).

Para a validação da escala proposta, as 139 imagens de entrenós de colmo contendo os diferentes graus de severidade real da antracnose do colmo foram apresentadas para dez avaliadores. A apresentação foi por meio de PowerPoint slides, e os avaliadores analisaram a severidade da doença sem e com o uso das duas escalas (Tabela 1 e 2). Para cada imagem avaliada, o valor sem escala foi de 0 a 100, e com o uso das escalas, o valor adotado foi referente ao ponto médio. As escalas foram denominadas como primeira escala e escala proposta (Tabela 1 e 2).

Após a obtenção dos dados de cada avaliador, esses foram submetidos a uma análise de regressão linear simples entre a severidade real (variável independente) e a severidade estimada (variável dependente), sem e com a utilização das duas escalas. Com isso, foi obtido o coeficiente de determinação (R^2) e a variância dos erros (valor estimado menos a severidade real) para cada avaliador. A reprodutibilidade das avaliações ou confiança entre os avaliadores foi determinada com base nos valores de R^2 da regressão linear entre as severidades estimadas pelos 10 diferentes avaliadores combinados aos pares, como proposto por Nutter e Schultz (1995), sendo um total de 45 combinações. As análises de regressão entre a severidade real e a estimada para cada avaliador, bem como entre os avaliadores, foram realizadas por meio do programa estatístico MINITAB, versão 14.

Tabela 1. Primeira escala para avaliação da antracnose do colmo em milho.

Nota	Severidade (%)	Ponto médio (%)
1,0	00,00 - 25,00	12,50
2,0	26,00 - 50,00	38,00
3,0	51,00 - 75,00	63,00
4,0	76,00 - 100,00	88,00

Tabela 2. Escala proposta para avaliação da antracnose do colmo em milho.

Nota	Severidade (%)	Ponto médio (%)
0,5	00,00 - 12,50	6,25
1,0	12,60 - 25,00	18,80
1,5	25,10 - 37,50	31,30
2,0	37,60 - 50,00	43,80
2,5	50,10 - 62,50	56,30
3,0	62,60 - 75,00	68,80
3,5	75,10 - 87,50	81,30
4,0	87,60 - 100,00	93,80

Além da regressão linear entre severidade real e estimada, a acurácia e a precisão também foram determinadas usando a análise de correlação concordante de Lin (p_c), a qual combina as medidas de acurácia e precisão para avaliar o grau em que os pares das observações se deslocam em relação à linha concordante de 45° (com intercepto = 0 e inclinação = 1). A fórmula utilizada para o pc foi a seguinte: $pc = Cb \cdot r$, em que Cb é um fator de correção do desvio que mede o quão longe está a linha ajustada dos desvios em relação à linha concordante e, portanto, é uma medida de acurácia, e r , que é o coeficiente de correlação entre a severidade estimada (Y) e a severidade real (X), sendo uma medida de precisão. Cb é derivado de: $C_b = [(v+1 / v+u^2) / 2]^{-1}$, onde $v = \sigma_y / \sigma_x$, em que σ é o desvio-padrão de Y e X, respectivamente; e $u = (\mu_y - \mu_x) / (\sigma_y \cdot \sigma_x)^{-1/2}$, onde μ é o valor médio de Y e X, respectivamente, σ é definido como acima. O componente v mede a diferença de escala entre os valores de Y e X, que, essencialmente, é definida pela diferença na inclinação das duas linhas (linha ajustada da regressão com a linha concordante). Iguais inclinações para as duas linhas implica um valor de v igual a 1. O termo u reflete a mudança de localização da linha ajustada da regressão em relação à linha concordante, que é caracterizado pela diferença de altura entre essas duas linhas. Iguais alturas implicam um valor de u igual a 0. Portanto, um avaliador perfeito é aquele em que suas estimativas estão todas iguais à linha concordante, ou seja, $r = 1$, $Cb = 1$ [$\sigma = 1$, $u = 0$], e, conseqüentemente, $pc = 1$ (NITA et al., 2003; BOCK et al., 2010; CAPUCHO et al., 2011; YADAV et al., 2013).

Para todas essas variáveis obtidas pela análise de correlação concordante de Lin, incluindo a reprodutibilidade, a diferença entre a média foi calculada (com escala - sem escala e escala proposta - primeira escala), e um teste seguinte foi usado para

testar sua significância (YI et al., 2008; BARDSLEY; NGUGI, 2012; YADAV et al., 2013; RIOS et al., 2013). O teste de equivalência foi usado para calcular o intervalo de confiança (IC) a 95% de probabilidade para cada variável por *bootstrapping* usando o método do percentil. Se o IC para uma determinada variável não incluiu o valor zero indica que a diferença é significativa ($P = 0,05$), ou seja, prova-se que o uso da escala melhorou significativamente a variável em análise, baseando-se nas estimativas de todos avaliados.

Resultados

A escala diagramática proposta neste trabalho contém oito classes de intensidade da antracnose do colmo (6.25, 18.8, 31.3, 43.8, 56.3, 68.8, 81.3, 93.8), seguindo uma progressão aritmética e com intervalos menores de severidade entre as notas, a qual pode ser observada na Figura 1.

Baseado na análise de correlação concordante de Lin e teste de equivalência, além da linha de regressão obtida entre a severidade real e estimada, as avaliações realizadas por todos os avaliadores foram mais próximas ao valor real com o uso da escala proposta, quando comparada com a primeira escala ou com as avaliações sem o auxílio de escala (Tabela 3, Figuras 2 e 3). De fato, as medidas de acurácia e precisão melhoraram significativamente com o resultado da utilização da escala proposta para avaliar a severidade da antracnose do colmo no milho.

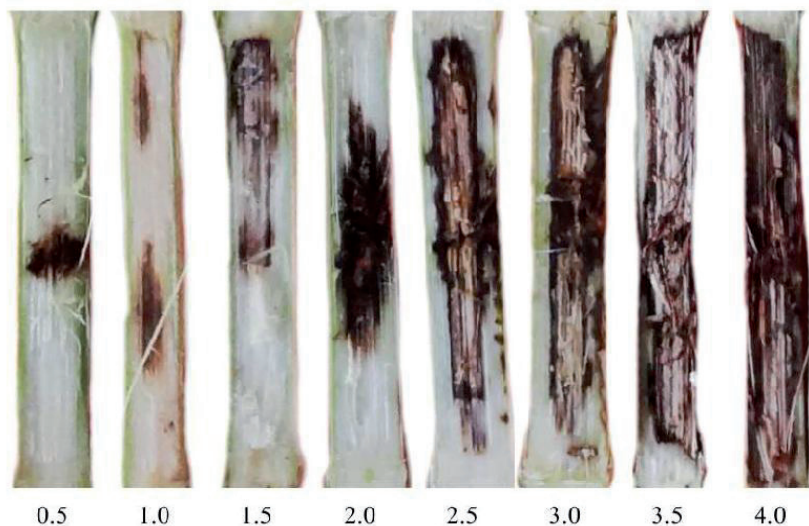


Figura 1. Escala diagramática proposta para avaliar a severidade da antracnose do colmo em milho. Os dados são notas relacionadas com a percentagem (%) do entrenó com sintomas da antracnose.

Tabela 3. Efeito da escala proposta na acurácia e precisão, por meio da avaliação da antracnose do colmo em 139 entrenós por 10 avaliadores.

Variável	Média ^a			Diferença entre médias	95% IC da diferença
	Sem escala	Primeira escala	Escala proposta		
c	P P PM	P P PM	P P PM	W P P PPS I	W P - P PPS
	P P PPI	P P PSI	P P PSI	P PS P PPS I	W PP P P
	P P P I	PS P VI	PS P VI	W P V P PPS I	W P P PS
	P P I	PP PPI	PP PPI	W P P PPS I	W P PS
ρ	P PPI	P PPI	P PPI	P P P PPSI	W P S P P
Média					
Variável	Média			Diferença entre médias	95% IC da diferença
	Sem escala	Escala proposta	Escala proposta		
c	P P PM	P PPI	P PPI	P V P PPSI	PS P P
	P P PPI	P PPI	P PPI	P P S P PPS I	PP P
	P P P I	PP PPI	PP PPI	W SPV P P I	W P W
	P P I	PV PPSI	PV PPSI	W PVS P PPS I	W V P PP
ρ	P PPI	P V PPI	P V PPI	P S P PPS I	PP P
Média					
Variável	Média			Diferença entre médias	95% IC da diferença
	Primeira escala	Escala proposta	Escala proposta		
c	P P PM	P PPI	P PPI	PP P PPS I	PP P P
	P P PSI	P PPI	P PPI	PP P PPS I	P SP P V
	PS P VI	PP PPI	PP PPI	W P PPS I	W SP W S
	PP PPI	PV PPSI	PV PPSI	PP P PPS I	PPS PP
ρ	P PPI	P V PPI	P V PPI	P P P PPS I	PP P P S

d
m
i

icl s

ρ PPI

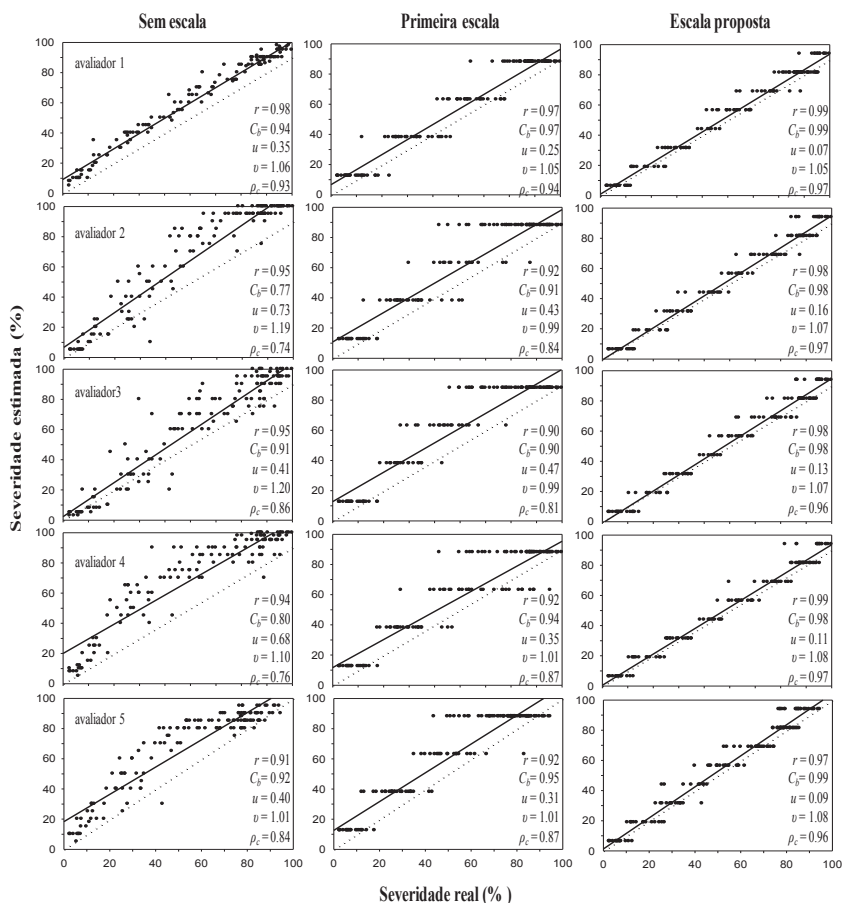


Figura 2. Severidade estimada sem e com a utilização das duas escalas (pontos cheios), e linha de regressão obtida entre a severidade real e estimada (linha cheia) da antracnose do colmo (*Colletotrichum graminicola*) em milho (*Zea mays*) para os cinco primeiros avaliadores. A linha pontilhada representa a situação ideal com as estimativas idênticas a real.

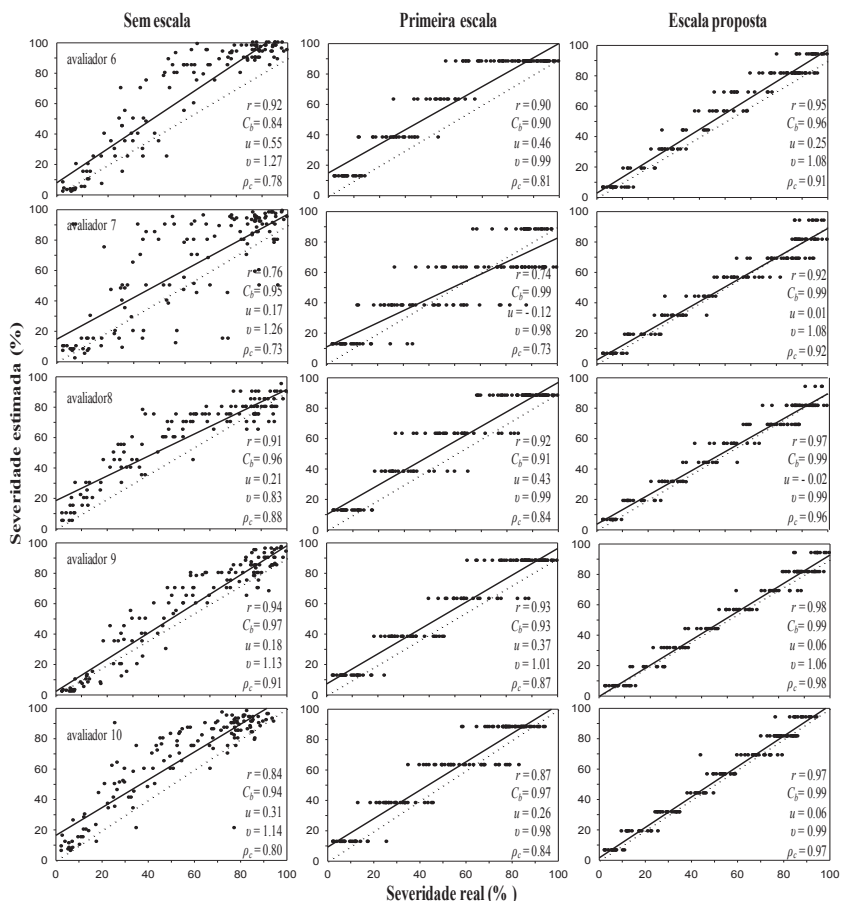


Figura 3. Severidade estimada sem e com a utilização das duas escalas (pontos cheios), e linha de regressão obtida entre a severidade real e estimada (linha cheia) da antracnose do colmo (*Colletotrichum graminicola*) em milho (*Zea mays*) para os outros cinco avaliadores. A linha pontilhada representa a situação ideal com as estimativas idênticas a real.

Ao se analisar a primeira escala, apenas a variável v foi significativa em relação às avaliações sem escala, no entanto, as outras variáveis apresentaram uma pequena diferença numérica e não foram significativamente diferentes. Entretanto, com o uso da escala proposta, o v não foi significativo em relação à sem escala, mas todas as outras variáveis foram significativas. Por meio do uso dessa escala, todas as variáveis foram significativamente diferentes em relação à primeira escala, e os valores apresentados foram mais próximos de uma medição acurada ($r = 0.97$, $C_b = 0.98$, $u = 0.09$, $v = 1.06$, $\rho_c = 0.96$) (Tabela 3). Além disso, para 100% dos avaliadores, o coeficiente da análise de correlação concordante de Lin (ρ_c) foi maior com o uso da escala proposta (Figuras 2 e 3).

Com o uso da escala proposta, foi observado um aumento da precisão para todos os avaliadores, pois os níveis de precisão das estimativas visuais da antracnose do colmo apresentaram valores de coeficiente de determinação (R^2) superiores a 95% (dados não mostrados), podendo ser considerados altos para este tipo de avaliação. Além disso, uma melhor precisão também foi confirmada pela diminuição dos erros absolutos (Figuras 4 e 5). Sem a utilização de escala ou com o uso da primeira escala, os avaliadores apresentaram mais desvios em erros, e com exceção do avaliador 1, todos os outros avaliadores apresentaram erros mais alto que 20%, com vários exemplos de erros maiores do que 30%. Entretanto, com o uso da escala proposta, poucos erros foram acima de 15%, e a maioria foi concentrada no intervalo de 10% (Figuras 4 e 5).

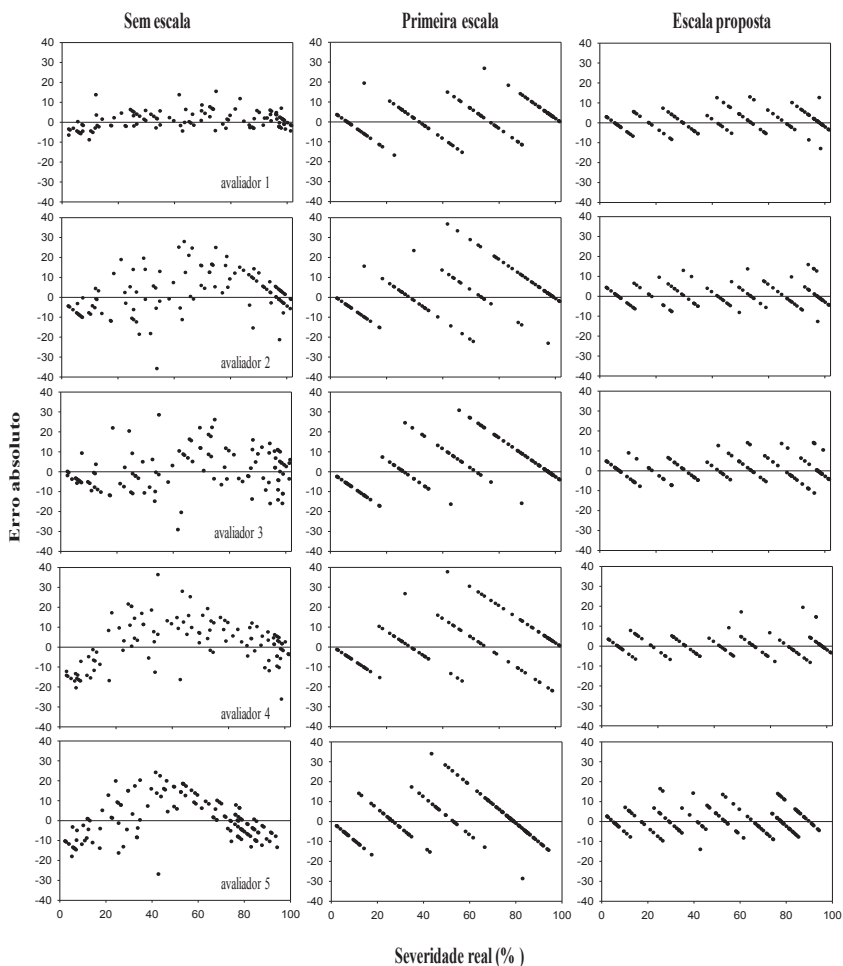


Figura 4. Erros absolutos (severidade estimada menos a real) para os cinco primeiros avaliadores sem e com a utilização das duas escalas para a quantificação da severidade da antracnose do colmo (*Colletotrichum graminicola*) no milho (*Zea mays*). O uso da escala proposta visivelmente diminuiu o erro absoluto dos avaliadores.

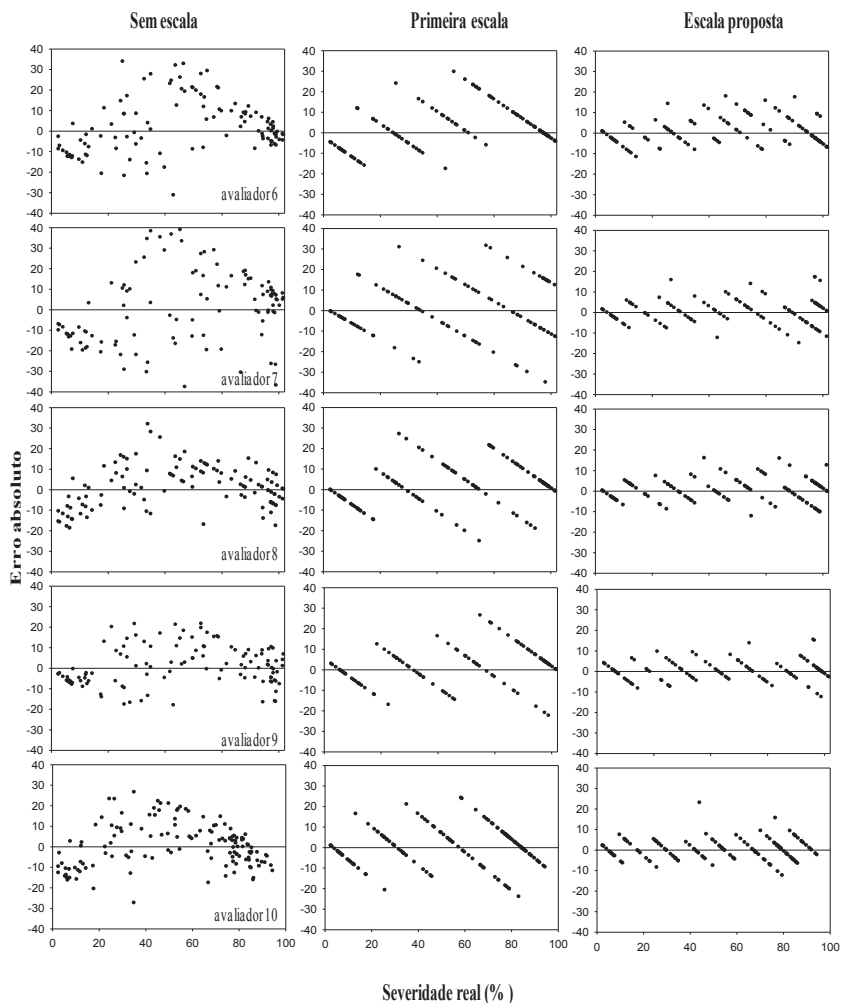


Figura 5. Erros absolutos (severidade estimada menos a real) para os outros cinco avaliadores sem e com a utilização das duas escalas para a quantificação da severidade da antracnose do colmo (*Colletotrichum graminicola*) no milho (*Zea mays*). O uso da escala proposta visivelmente diminuiu o erro absoluto dos avaliadores.

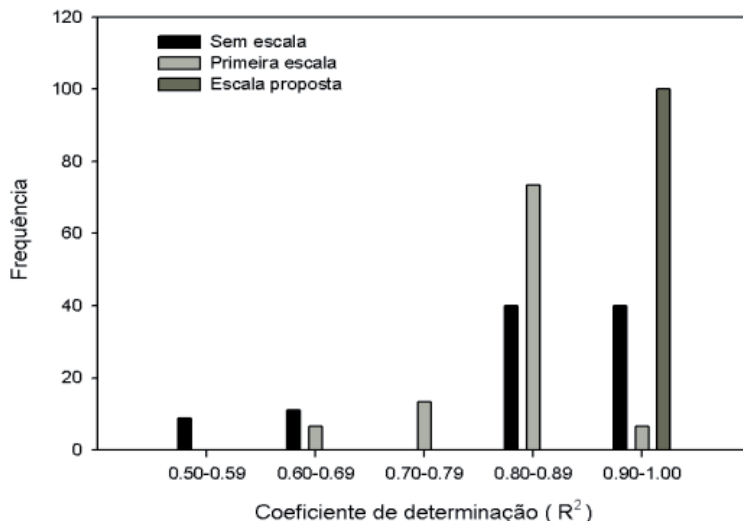


Figura 6. Reprodutibilidade das estimativas da antracnose do colmo representada pela frequência dos coeficientes de determinação (R^2) de equações de regressão linear simples relacionando as estimativas entre todos os avaliadores, sem e com a utilização das duas escalas. A frequência é calculada considerando o número de ocorrências do intervalo em relação ao total de 45 combinações possíveis entre todos os 10 avaliadores em cada avaliação da severidade da doença.

A reprodutibilidade foi melhorada significativamente por meio da utilização da escala proposta (Figura 6 e Tabela 4). Sem o uso de escala e com a primeira escala, 60% e 93% das comparações ao pares mostraram um $R^2 < 0.89$, respectivamente. Enquanto isso, com a escala proposta, 100% das comparações resultaram em um $R^2 > 0.90$, indicando assim resultados confiáveis (Figura 6). Enquanto o coeficiente de determinação médio entre avaliadores (R^2) foi de 83% para o uso sem escala e com primeira escala, com a escala proposta a média foi de 95%, com pouca variação. Além disso, a análise de diferença média

(bootstrapping) demonstrou um efeito significativo da escala proposta, em que os avaliadores podem avaliar a doença de maneira mais uniforme (Tabela 4).

Tabela 4. Reprodutibilidade da avaliação visual em 139 entrenós com antracnose do colmo por 10 avaliadores, sem e com o uso das duas escalas. Reprodutibilidade é medida por coeficiente de determinação (R^2).

Estatística	Sem escala	Primeira escala	Escala proposta
Coeficiente de determinação médio entre avaliadores (R^2) ^a	0.83 (0.55 – 0.95)	0.83 (0.64 – 0.93)	0.95 (0.92 – 0.97)
Diferença média (primeira escala – sem escala) ^b	0.0026 (0.0002) - (IC -0.0159 – 0.0216) ns		
Diferença média (escala proposta – sem escala)	0.1136 (0.0003) - (IC 0.0813 – 0.1482) sig		
Diferença média (escala proposta – primeira escala)	0.1133 (0.0002) - (IC 0.0938 – 0.1356) sig		

^a Coeficiente médio de determinação estimado das comparações ao pares da avaliação por todos avaliadores.

^b Média da diferença entre cada avaliação, com erro padrão em parênteses, intervalo de confiança (95% IC) baseado em bootstrap. Se no IC incluiu zero, a diferença não é significativa ($P = 0,05$). ^{ns} não significativo, ^{sig} significativo

Discussão

A escala diagramática proposta teve uma boa representação dos sintomas da antracnose do colmo, melhorando a habilidade dos avaliadores para avaliar a severidade de forma mais acurada e precisa nos 139 entrenós apresentados neste trabalho. Na avaliação de um experimento futuro, a análise estatística provavelmente será mais significativa e os tratamentos serão mais diferenciados com o uso da escala proposta, pois o intervalo em severidade entre as notas é menor em comparação ao uso da primeira escala. Portanto, os resultados aqui obtidos reforçam a importância de validação de uma escala para as futuras avaliações de doenças em plantas, conforme encontrado em vários outros estudos (STONEHOUSE, 1994; LEITE; AMORIN, 2002; GOMES et al., 2004; MICHEREFF et al., 2006; CAPUCHO et al., 2010; 2011; YADAV et al., 2013; RIOS et al., 2013).

Todas as análises utilizadas no presente trabalho demonstraram que a escala proposta melhorou de forma significativa a estimativa da severidade da antracnose do colmo comparada ao não uso de escala ou quando se utilizou a primeira escala. As avaliações realizadas por todos os avaliadores foram mais próximas ao valor real com a escala proposta, como pode ser observado pela análise de regressão linear entre a severidade real e a estimada. Além disso, 100% dos avaliadores apresentaram um coeficiente da análise de correlação concordante de Lin (ρ_c) maior e as variáveis foram significativas pelo teste de equivalência quando a escala proposta foi adotada. Mesmo com a utilização da análise de regressão, o uso do ρ_c e o teste de equivalência (95% IC) foram de grande importância para interpretação das avaliações realizadas pelos

dez avaliadores. O coeficiente de Lin (ρ_c) tem sido usado com muito sucesso em vários trabalhos (NITA et al., 2003; BOCK et al., 2010; CAPUCHO et al., 2011; YADAV et al., 2013; RIOS et al., 2013), e mais recentemente o teste de equivalência também, facilitando ainda mais a conclusão dos resultados (BARDSLEY; NGUGI, 2012; YADAV et al., 2013; RIOS et al., 2013).

Durante o processo de avaliação, os avaliadores tiveram uma tendência em superestimar a severidade da doença, a qual tem sido observada em vários outros estudos envolvendo validação de escalas (SHERWOOD et al., 1983; NEWTON; HACKETT, 1994; PARKER et al., 1995; DIAZ et al., 2001; LEITE; AMORIM, 2002; CAPUCHO et al., 2010, 2011; RIOS et al., 2013). Apenas em alguns poucos estudos tem sido verificada a severidade subestimada (MICHEREFF et al., 1998, 2000; GOMES et al., 2004).

Nas estimativas da antracnose do colmo, o erro absoluto foi reduzido usando-se a escala proposta, em que a maioria dos erros foi concentrada no intervalo de 10%. Portanto, o treinamento dos avaliadores com uso dessa escala será um auxílio na redução dos erros absolutos, aumentando a eficiência e padronizando os resultados das avaliações (NUTTER; SCHULTZ, 1995; STONEHOUSE, 1994). A confiabilidade de estimativas entre os avaliadores também foi melhorada, e 100% das comparações resultaram em um $R^2 > 0.90$, indicando a efetividade da escala proposta. Sem o uso de escala e com a primeira escala, o coeficiente de determinação médio entre avaliadores (R^2) foi de 83%, enquanto com a escala proposta a média foi de 95%, com pouca variação, além de apresentar um efeito significativo pela análise de bootstrapping. Quando diferentes avaliadores usam a mesma escala para avaliar

severidade de doenças, é importante que as estimativas sejam similares (NUTTER; SCHULTZ, 1995).

Conclusão

Como conclusão geral, a escala proposta melhorou a acurácia, precisão e confiabilidade das estimativas da severidade da antracnose do colmo em milho. Portanto, essa escala será uma ferramenta de grande utilidade para estudos epidemiológicos, caracterização de isolados de *C. graminicola*, danos de produção, métodos de controle da antracnose do colmo e outras pesquisas envolvendo podridão do colmo na cultura do milho.

Agradecimentos

Os autores agradecem ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e à Embrapa Milho e Sorgo pelo apoio financeiro.

Referências

AFOLABI, C. G.; OJIAMBO, P. S.; EKPO, E. J. A.; MENKIR, A.; BANDYOPADHYAY, R. Novel sources of resistance to Fusarium stalk rot of maize in tropical Africa. **Plant Disease**, St. Paul, v. 92, p. 772-780, 2008.

ANDERSON, B.; WHITE, D. G. Evaluation of methods for identification of corn genotypes with stalk rot and lodging resistance. **Plant Disease**, St. Paul, v. 78, p. 590- 593, 1994.

BARDSLEY, S. J.; NGUGI, H. K. Reliability and accuracy of visual methods used to quantify severity of foliar bacterial spot symptoms on peach and nectarine. **Plant Pathology**, London, v. 62, n. 2, p. 460-474, 2012.

BERGSTROM, G. C.; NICHOLSON, R. L. The biology of corn anthracnose: knowledge to exploit for improved management. **Phytopathology**, St. Paul, v. 83, p. 596-608, 1999.

BOCK, C. H.; POOLE, G.; PARKER, P. E.; GOTTWALD, T. R. Plant disease severity estimated visually, by digital photography and image analysis, and by hyperspectral imaging. **Critical Reviews in Plant Sciences**, v. 29, p. 59- 107, 2010.

CALLAWAY, M. B.; SMITH, M. E.; COFFMAN, W. R. Effect of anthracnose stalk rot on grain yield and related traits of maize adapted to the northeastern United States. **Canadian Journal of Plant Science**, Ottawa, v. 72, p. 1031-1036, 1992.

CAPUCHO, A. S.; ZAMBOLIM, L.; DUARTE, H. S. S.; PARREIRA, D. F.; FERREIRA, P. A.; LANZA, F. E.; COSTA, R. V.; CASELA, C. R.; COTA, L. V. Influence of leaf position that correspond to whole plant severity and diagrammatic scale for white spot of corn. **Crop Protection**, Guildford, v. 29, p. 1015-1020, 2010.

CAPUCHO, A. S.; ZAMBOLIM, L.; DUARTE, H. S. S.; VAZ, G. R. O. Development and validation of standard área diagram set to estimate severity of leaf rust in *Coffea arabica* and *C. canephora*. **Plant Pathology**, London, v. 60, p. 1144-1150, 2011.

CHRISTENSEN, J. J.; WILCOXSON, R. D. **Stalk rot of corn.**

St. Paul: American Phytopathological, 1966. 59 p. (American Phytopathological Society. Monograph, 3).

COTA, L. V.; COSTA, R. V.; SILVA, D. D.; CASELA, C. R.;

PARREIRA, D. F. Quantification of yield losses due to anthracnose stalk rot on corn in Brazilian conditions. **Journal of Phytopathology**, Berlin, v. 160, p. 680-684, 2012.

DIAZ, C. G.; BASSANEZI, R. B.; FILHO, A. B. Desenvolvimento e validação de uma escala diagramática para *Xanthomonas*

axonopodis pv. *phaseoli* em feijoeiro. **Summa Phytopatologica**, Piracicaba, v. 27, p. 35-39, 2001.

GOMES, A. M. A.; MICHEREFF, S. J.; MARIANO, R. L.

R. Elaboração e validação de escala diagramática para cercosporiose da alface. **Summa Phytopathologica**, Piracicaba, v. 30, p. 38-42, 2004.

JIRAK-PETERSON, J. C.; ESKER, P. D. Tillage, crop rotation, and hybrid effects on residue and corn anthracnose occurrence in Wisconsin. **Plant Disease**, St. Paul, v. 95, p. 601-610, 2011.

KELLER, N. P.; BERGSTROM, G. C.; CARRUTHERS, R. I.

Potential yield reductions in maize associated with an anthracnose/european corn borer pest complex in New York. **Phytopathology**, St. Paul, v. 76, p. 586-589, 1986.

KELLER, N. P.; BERGSTROM, G. C. Developmental

predisposition of maize to anthracnose stalk rot. **Plant Disease**, St. Paul, v. 72, p. 977- 980, 1988.

LAURA, R. T.; KOMMEDAHL, K. Image analysis and visual estimates for evaluating disease reactions of corn to *Fusarium* stalk rot. **Plant Disease**, St. Paul, v. 78, p. 876-878, 1994.

LEITE, R. M. V. B. C.; AMORIM, L. Elaboração e validação de escala diagramática para Mancha de Alternária em girassol. **Summa Phytopathologica**, Piracaicaba, v. 28, p. 14-19, 2002.

MADDEN, L. V.; HUGHES, G.; VAN DEN BOSCH, F. **The study of plant disease epidemics**. St. Paul: APS Press, 2007.

MATIELLO, R. R.; LOPES, M. T. G.; BRUNELLI, K. R.; CAMARGO, L. E. A. Comparison of yield damage of tropical maize hybrids caused by anthracnose stalk rot. **Tropical Plant Pathology**, Brasília, v. 38, p. 128-132, 2013.

MICHEREFF, S. J.; PEDROSA, R. A.; NORONHA, M. A.; MARTINS, R. B.; SILVA, F. V. Escala diagramática e tamanho de amostras para avaliação da severidade da mancha parda da mandioca (*Cercosporidium henningsii*). **Agrotrópica**, Itabuna, v. 10, p. 143-148, 1998.

MICHEREFF, S. J.; MAFFIA, L. A.; NORONHA, M. A. Escala diagramática para avaliação da severidade da queima das folhas do inhame. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 25, p. 612-619, 2000.

MICHEREFF, S. J.; NORONHA, M. A.; ANDRADE, D. E. G. T. de; OLIVEIRA, E. P. de; XAVIER FILHA, M. S.; MOREIRA, P. A. A. Development and validation of a diagrammatic key for *Cercospora* leaf spot of sweet pepper. **Summa Phytopathologica**, Piracaicaba, v. 32, p. 260-266, 2006.

MUIMBA-KANKOLONGO, A.; BERGSTROM, G. C. Wound predisposition of maize to anthracnose stalk rot as affected by internode position and inoculum concentration of *Colletotrichum graminicola*. **Plant Disease**, St. Paul, v. 76, 188-195, 1992.

MUIMBA-KANKOLONGO, A.; BERGSTROM, G. C. Reduced anthracnose stalk rot in resistant maize is associated with restricted development of *Colletotrichum graminicola* in pith tissues. **Journal of Phytopathology**, Berlin, v. 159, p. 329-341, 2011.

NEWTON, A. C.; HACKETT, C. A. Subjective components of mildew assessment on spring barley. **European Journal of Plant Pathology**, Dordrecht, v. 100, p. 395-412, 1994.

NITA, M.; ELLIS, M. A.; MADDEN, L. V. Reliability and accuracy of visual estimation of Phomopsis leaf blight of strawberry. **Phytopathology**, St. Paul, v. 93, p. 995-1005, 2003.

NUTTER, F. W.; SCHULTZ, P. M. Improving the accuracy and precision of disease assessments: selection of methods and use of computer-aided training programs. **Canadian Journal of Plant Pathology**, Ottawa, v. 17, p. 174-184, 1995.

PARKER, S. R.; SHAW, M. W.; ROYLE, D. J. The reliability of visual estimates of disease severity on cereal leaves. **Plant Pathology**, London, v. 43, p. 856-865, 1995.

PERKINS, J. M.; HOOKER, A. L. Effects of anthracnose stalk rot on corn yields in Illinois. **Plant Disease Reporter**, St. Paul, v. 63, p. 26-30, 1979.

RIOS, J. A.; DEBONA, D.; DUARTE, H. S. S.; RODRIGUES, F. A. Development and validation of a standard area diagram set to assess blast severity on wheat leaves. **European Journal of Plant Pathology**, Dordrecht, v. 136, p. 603-311, 2013.

SHERWOOD, R. T.; BERG, C. C.; HOOVER, M. R.; ZEIDERS, K. E. Illusions in visual assessment of Stagonospora leaf spot of orchardgrass. **Phytopathology**, St. Paul, v. 73, p. 173-177, 1983.

STONEHOUSE, J. Assessment of Andean bean diseases using visual keys. **Plant Pathology**, London, v. 43, p. 519-527, 1994.

TODD, L. R.; KOMMEDAHL, T. Image analysis and visual estimates for evaluating disease reactions of corn to Fusarium stalk rot. **Plant Disease**, St. Paul, v. 78, p. 876-878, 1994.

VALE, F. X. R.; JESUS JUNIOR, W. C.; ZAMBOLIM, L. **Epidemiologia aplicada ao manejo de doenças de plantas**. Belo Horizonte: Perfil, 2004. 532 p.

VENARD, C.; VAILLANCOURT, L. Colonization of fiber cells by *Colletotrichum graminicola* in wounded maize stalks. **Phytopathology**, St. Paul, v. 97, p. 438-447, 2007.

YADAV, N. V.; VOS, S. M.; BOCK, C. H.; WOOD, B. W. Development and validation of standard area diagrams to aid assessment of pecan scab symptoms on fruit. **Plant Pathology**, London, v. 62, n. 2, p. 325-335, 2013.

YI, Q.; WANG, P. P.; HE, Y. Reliability analysis for continuous measurements: equivalence test for agreement. **Statistics in Medicine**, New York, v. 27, p. 2816-2825, 2008.

WHEELER, H.; POLITIS, D. J.; PONELEIT, C. G. Pathogenicity, host range, and distribution of *Colletotrichum graminicola* on corn. **Phytopathology**, St. Paul, v. 64, p. 293-296, 1974.

